



北海道公立大学法人
札幌医科大学
Sapporo Medical University

SAPPORO MEDICAL UNIVERSITY INFORMATION AND KNOWLEDGE REPOSITORY

Title 論文題目	Metallothionein contributes to neuropathic pain in partial sciatic nerve ligated rats (メタロチオネインは坐骨神経部分結紮モデルラットにおける神経障害性疼痛に寄与している)
Author(s) 著 者	藤田, 安詞
Degree number 学位記番号	甲第 2776 号
Degree name 学位の種別	博士 (医学)
Issue Date 学位取得年月日	2014-03-31
Original Article 原著論文	
Doc URL	
DOI	
Resource Version	Author Edition

博士論文の要約

報告番号 甲第 2776 号 氏名 藤田 安 詞

Metallothionein contributes to neuropathic pain in partial sciatic nerve ligated rats

メタロチオネインは坐骨神経部分結紮モデルラットにおける神経障害性疼痛に寄与している

研究目的

神経障害性疼痛は神経損傷や神経疾患によって生じる慢性疼痛である。その症状として持続的な疼痛、痛覚過敏、アロディニアが挙げられる。神経障害性疼痛は中枢神経系と末梢神経系の両方のメカニズムで発症する。さらに、神経細胞とグリア細胞の両方が神経障害性疼痛の発症に関連している。しかし、神経障害性疼痛の発症機序は未だわかっていない。以前の研究で、CRPS 患者から採取した末梢神経では、プロテオミクスの手法によって、メタロチオネインが欠損していることを明らかにした。本研究では、神経障害性疼痛モデルである坐骨神経部分結紮モデル（PSL モデル）においてメタロチオネイン濃度が変化しているのか、そして坐骨神経部分結紮モデルにおける物理的もしくは温熱刺激に対する行動にメタロチオネインの投与が改善効果を及ぼすのかを検討することを目的とした。

研究方法

雌 SD ラット 16 匹に坐骨神経部分結紮手術（PSL）を行った。術後 3、7、14、28 日目に各 4 匹ずつから結紮した坐骨神経を摘出し、神経の長軸方向と平行に新鮮凍結切片を作成した。抗メタロチオネイン抗体を使用し免疫染色を施行した。次に雌 SD ラット 16 匹に PSL を行い、治療群（n=8）には PSL 直後にリコンビナントメタロチオネイン 20 μ g を直接坐骨神経上膜下に、翌日より 6 日間メタロチオネイン 10 μ g を神経周囲へ経皮的に投与した。対照群（n=8）には同様の方法で PBS を投与した。術後 1、3、5、7 日目に疼痛行動を評価した。最終行動評価後に坐骨神経を摘出し、GAP43、GFAP による蛍光免疫染色を行い組織の変化を観察した。また、神経の長軸方向と平行に新鮮凍結切片を作成し、抗メタロチオネイン抗体を使用し免疫染色を施行し、組織の変化を観察した。

研究成績

PSL 手術後 3 日目では神経結紮部近位で断端神経腫様変化、遠位で Waller 変性など構造変化を軽度認め、メタロチオネイン染色強度は結紮部近位で軽度低下を認めた。術後 7 日目では構造変化を更に強く認め、結紮部近位でのメタロチオネイン染色強度はより強い減少を認めた。術後 14 日目では、結紮部遠位でも染色強度の低下を認めた。術後 28 日目では結紮部遠位での染色強度低下に加え、損傷部近位にも染色強度の低下を認め、神経全体での低下を認めた。*von Frey test* では術後 5 日目以降で、*Hargreaves test* では術後 7 日目に疼痛行動の有意な減少を認めた。術後 7 日目に坐骨神経を摘出して GAP43、GFAP の免疫染色を行ったところ、治療群は結紮部遠位で GAP43 の発現上昇および結紮部近位での GFAP の発現抑制を認めた。

考察

メタロチオネインは 1957 年に馬の腎臓からカドミウムと結合するタンパク質として同定された。生体内の重金属（主として亜鉛）の恒常性維持能力、神経修復能力、強力な抗酸化能力を持ち、中枢神経系の変性疾患、神経損傷などの分野において、生体内で重要な役割を果たすと報告される。しかし、末梢神経系に関する報告はほとんどない。本研究では神経障害性疼痛モデルラットのメタロチオネイン濃度を経時的に評価し、メタロチオネインを神経損傷部に投与することで、改善効果が得られることを認めた。治療群の坐骨神経において GAP43 の発現上昇および GFAP の発現抑制を認めたことから、メタロチオネインは末梢神経系において神経再生作用および Schwann 細胞の活性化の抑制作用を有し、神経障害性疼痛の発生に深く関与するタンパク質であると推察された。

結論

神経障害性疼痛モデルである、坐骨神経部分結紮モデルラットでは神経損傷部でのメタロチオネイン濃度は経時的に減少し、損傷部に対してメタロチオネインを投与すると末梢神経レベルで疼痛行動の改善をもたらすことを示した。